

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
11. Jg. 1973, S. 237—242

Zum Magnesium-Stoffwechsel von *E. coli*

Von T. GÜNTHER und C. F. HOFFMANN

Zentralinstitut für Biochemie und Biophysik der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 26. März/30. April 1973)

Herrn Professor Dr. Dr. E. Schütte zum 65. Geburtstag gewidmet

Der Mg-Gehalt von *E. coli* steigt bei höherer extrazellulärer Mg-Konzentration infolge einer Mg-Bindung an die Zellmembran stark an. Die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität nimmt dabei nur wenig zu. Die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität in *E. coli*-Zellen wird durch Stoffwechsellinhibitoren nicht verändert. Diese Ergebnisse bestätigen, daß bei nicht wachsenden Bakterien Mg-Influx und Efflux gekoppelt sind und Mg nicht frei permeiert.

Während des synchronisierten Wachstums nimmt der Mg-Gehalt im gleichen Maße wie der DNA-, RNA- und Proteingehalt kontinuierlich zu.

Mg metabolism in E. coli

In the presence of high extracellular Mg concentrations, the Mg content of *E. coli* increases as a result of Mg binding to the cell membrane. At the same time, there is only a small increase in the intracellular Mg ionic activity. The intracellular Mg ionic activity in *E. coli* cells is not altered by metabolic inhibitors. These results confirm that the Mg influx and efflux are coupled in non-growing bacteria and Mg does not permeate freely.

During synchronous growth, the Mg content increases continually and in proportion to concentrations of DNA, RNA and protein.

Mg ist ein lebensnotwendiges, überwiegend intrazellulär lokalisiertes Bioelement, dessen biochemische Wirkungen sich auf seine schwachen komplexbildenden Eigenschaften zurückführen lassen. Mit Hilfe dieser Eigenschaft aktiviert Mg hauptsächlich enzymatische Reaktionen, bei denen Nukleotide umgesetzt werden, und stabilisiert zusätzlich die Zellmembranen, Mitochondrien, Ribosomen und Nucleinsäuren. Mg ist daher an praktisch allen Stoffwechselfunktionen wie Glykolyse, Atmung, oxydativer Phosphorylierung, sowie an der Synthese von Kohlenhydraten, Lipiden, Proteinen und Nucleinsäuren beteiligt (1).

Bei Mg-Mangel treten auch bei Bakterien mannigfaltige Störungen auf (2, 3). Mg-Mangel tritt bei Bakterien aber erst ein, wenn der Mg-Gehalt des Wachstumsmediums infolge der Zellvermehrung verbraucht ist, denn *E. coli* wächst auch bei niedriger Mg-Konzentration im Medium, wie z. B. 10^{-6} mol/l, noch mit maximaler Geschwindigkeit. Dabei müssen zahlreiche Mg-abhängige Enzyme aktiv sein, deren Aktivierung durch Mg bei wesentlich höheren Mg-Ionenaktivitäten (10^{-3} mol/l (4)) erfolgt. Mg muß daher beim Wachsen gegen das elektrochemische Potential angereichert werden (5). Die dabei ablaufenden Reaktionen sind unbekannt.

Wenn man darüberhinaus die tatsächliche Rolle des Mg bei seinen verschiedenen Funktionen in der Zelle (in quantitativer Hinsicht) beschreiben will, ist eine genaue Kenntnis des Mg-Stoffwechsels und seines Zustandes in der Zelle erforderlich. *E. coli*-Zellen sind

für derartige Untersuchungen besonders geeignet, weil sie im Gegensatz zu tierischen Zellen auch extreme Versuchsbedingungen überstehen.

Methodik

Zellen von *E. coli* B 163 wurden, wie bereits ausführlich beschrieben (6), gezüchtet. Die Zellen wurden einmal mit bidest. Wasser auf der Zentrifuge bei 10000 g gewaschen und immer in einer Zell-Dichte von etwa 2 mg/ml in Tris-HCl-Medium unter Begasen mit 95% O₂/5% CO₂ inkubiert. Das Medium enthielt 0,15 mol/l Tris-HCl-Puffer pH 7,5, 90 mmol/l NaCl, 50 mmol/l KCl, 5 g/l Glucose und MgCl₂ wie jeweils angegeben.

Nach 10 min Vorinkubation wurde MgCl₂ der jeweiligen Konzentration zugegeben und noch 10 min inkubiert. Danach wurden die Proben (6 ml) abzentrifugiert und wie angegeben gewaschen.

Der Mg-Gehalt der Sedimente wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie und die Mg-Ionenaktivität mit einer Mg-sensitiven Elektrode wie bereits beschrieben (5) gemessen.

Die Synchronisation der Zellen wurde nach KUBITSCHKE et al. (7) vorgenommen. Logarithmisch wachsende Zellen wurden bei 5000 g abzentrifugiert, in Wachstumsmedium suspendiert und auf eine konstante Zellkonzentration eingestellt ($\Delta E_{405} = 1,3$). Hier-von wurden 0,4 ml auf einen kontinuierlichen Rohrzuckergradienten (50—150 g/l) gebracht und 2 min bei 1000 g zentrifugiert. 0,2 ml der oberen Schicht wurden in 5 ml Wachstumsmedium mit ²⁸Mg (etwa 2 μ Ci) (spezifische Aktivität beim Versand: 100 μ Ci/2 mg Mg, National Laboratories, Brookhaven, N. Y.¹) eingimpft. Die extrazelluläre Mg-Konzentration war dadurch 1,6 mmol/l. Das Wachstum wurde mittels Zellzählung in einer NEUBAUER-Zählkammer verfolgt. Zu verschiedenen

¹) Die Reinheit des ²⁸Mg haben wir durch Messung der Halbwertszeit überprüft. Danach enthielt das Präparat keinen meßbaren Anteil an fremden Radionukliden.

Zeiten während der Wachstums- und Teilungsperiode wurden 0,3 ml, zu späteren Zeiten 0,2 ml Proben entnommen, durch Sartorius-Filter, die mit Mg-freiem gekühltem Medium vorgewaschen waren, gesaugt und zweimal mit 2 ml gekühltem Mg-freiem Medium nachgewaschen.

Die Aktivität der Filter wurde sofort danach in einem Plastikszintillationszähler, verbunden mit Probenwechsler und Strahlungsmeßgerät FH 49c (Frieske und Berthold), gemessen; die Impulsraten auf Zerfall, der hierbei maximal 10% betrug, korrigiert, so daß die Meßgenauigkeit nicht beeinträchtigt war.

Die Atmung wurde nach Inkubation im gleichen Tris-HCl-Medium mit 2 g/l Glucose manometrisch im WARBURG-Apparat, die anaerobe Glykolyse wurde mit 1 mmol/l KCN anhand des Glucose-Verbrauchs ermittelt. Die Glucosebestimmungen wurden mit dem Blutzucker-Farbstest (Fa. Boehringer) ausgeführt. Der Proteingehalt wurde nach Lowry et al. (8) bestimmt.

Zur Bestimmung des Influx von [14 C]- α -Methylglucosid wurden die Zellen in 10 ml Tris-HCl-Medium, das 1 g/l Glycerin enthielt, mit 30 bzw. 0,3 mmol/l $MgCl_2$ 10 min vorinkubiert. Nach Zugabe von etwa 2 μ Ci [14 C[U]]-Methyl- α -D-glucopyranosid (etwa 3 mCi/mmol, Radiochemical Centre, Amersham) wurde jeweils 1 ml der Zellsuspension durch Sartorius-Filter (Porengröße 0,45 μ m, Durchmesser 25 mm), die mit 1 g/l gekühltem inaktivem α -Methylglucosid vorgewaschen waren, gesaugt und einmal mit 2 ml gekühltem Glucosidfreiem Inkubationsmedium nachgewaschen.

Die trockengesaugten Filter wurden im Flüssigszintillationszähler (Packard) mit BRAY'scher Lösung (9) nach Auflösen der Filter gemessen.

Ergebnisse

Mg-Gehalt von *E. coli*

Der Mg-Gehalt von *E. coli* ist abhängig von der Mg-Konzentration des Inkubationsmediums (Abb. 1). Das Ergebnis hängt jedoch von der Methode ab, mit der das Mg des Mediums vor der Bestimmung des zellulären Mg entfernt wird. Einen hohen Mg-Gehalt nach Inkubation bei hoher extrazellulärer Mg-Konzentration erhält man nach Waschen mit Wasser. Nach Waschen mit Mg-freiem Inkubationsmedium ist der Mg-Gehalt ziemlich unabhängig von der Mg-Konzentration im Medium und niedrig.

Das gleiche Ergebnis erhält man nach Waschen in Elektrolytlösungen. Abbildung 2 zeigt die Abnahme des Mg-Gehalts in Abhängigkeit von der Salzkonzen-

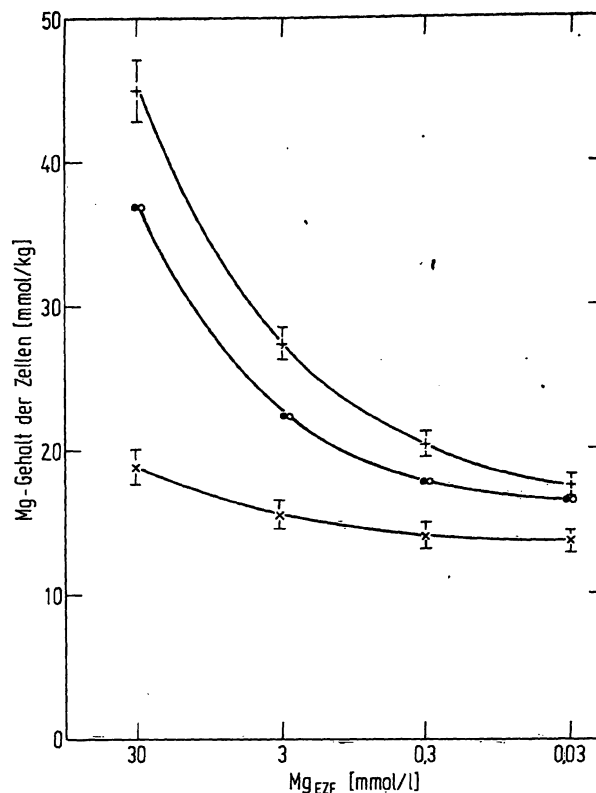


Abb. 1

Mg-Gehalt (in mmol/kg Feuchtgewicht) von *E. coli* in Abhängigkeit von der extrazellulären Mg-Konzentration. Über Nacht gewachsene Zellen wurden in Tris-HCl-Medium mit verschiedener Mg-Konzentration 10 min bei 37°C inkubiert und vor der Bestimmung des Mg-Gehaltes einmal mit verschiedenen Lösungen gewaschen:

- + mit bidest. Wasser
- x mit Mg-freiem Inkubationsmedium
- o mit 0,4 mol/l Rohrzucker
- Sphäroplasten mit 0,4 mol/l Rohrzucker

Die Präparation der Sphäroplasten erfolgte wie früher beschrieben (6). Das Feuchtgewicht wurde aus der konstanten Relation zum Proteingehalt gewonnen

tration. Dieser Effekt ist nicht spezifisch, sondern abhängig von der Ionenstärke. Wie das Waschen mit Rohrzuckerlösung zeigt, ist ein osmotischer Effekt der Waschlösung zu vernachlässigen.

Diese Ergebnisse zeigen, daß ein großer Teil des Mg-Gehaltes reversibel gebunden ist und durch andere Elektrolyte entfernt werden kann. Waschen mit Wasser

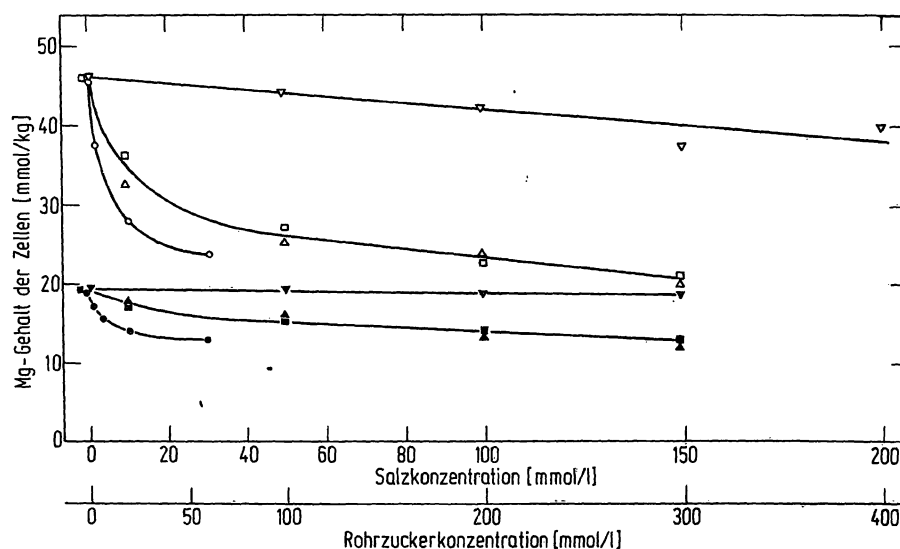


Abb. 2

Mg-Gehalt von *E. coli* in Abhängigkeit von der Konzentration der Waschlösung. Die Zellen wurden 10 min bei 37°C in Tris-HCl-Medium mit 30 mmol/l [∇ , \square , \triangle , \circ] und 0,3 mmol/l $MgCl_2$ [∇ , \square , \triangle , \circ] inkubiert und vor der Bestimmung des Mg-Gehalts in Lösungen verschiedener Konzentration gewaschen:

- ∇ , \square Rohrzucker
- \square , \triangle KCl
- \triangle , \circ NaCl
- \circ , \bullet $CaCl_2$

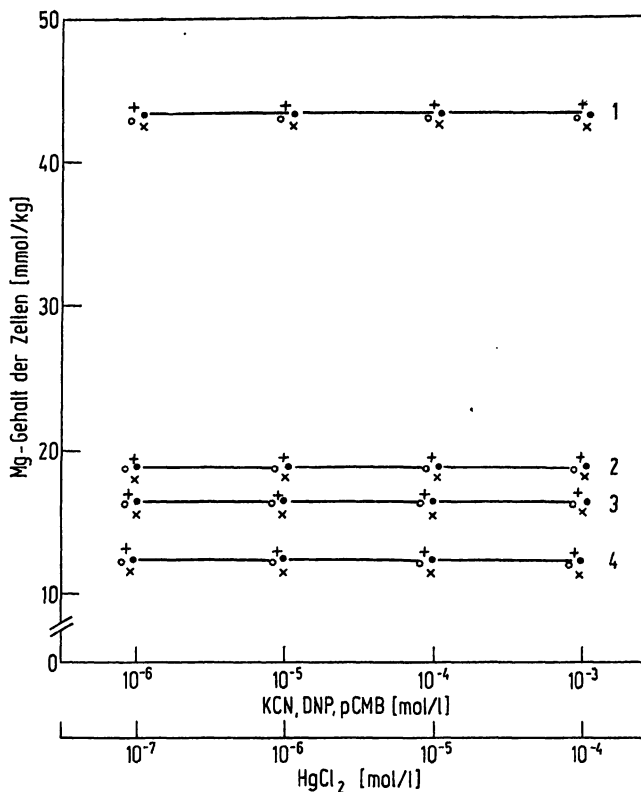


Abb. 3

Mg-Gehalt von *E. coli* in Gegenwart verschiedener Stoffwechsel-Inhibitoren

Die Zellen wurden 10 min bei 37°C in Tris-HCl-Medium mit 30 mmol/l MgCl_2 (Kurve: 1, 2) und 0,3 mmol/l MgCl_2 (Kurve 3, 4) inkubiert und vor der Mg-Bestimmung mit H_2O (Kurve 1, 3) bzw. Mg-freiem Tris-HCl-Medium (Kurve 2, 4) gewaschen

+ KCN; x DNP; o pCMB; • HgCl_2

gibt offenbar den zuverlässigsten Wert, weil dabei die Relation zwischen den verschiedenen Kationen am wenigsten geändert wird. Versuche, bei denen mit Mg-freiem Medium gewaschen wurde, führen demnach besonders bei hoher extrazellulärer Mg-Konzentration des Inkubationsmediums zu falschen Ergebnissen.

Das durch die Waschprozedur entfernte Mg muß außen an der Zelle gebunden gewesen sein. Eine Verdrängung von intrazellulär gebundenem Mg durch ein- oder zweiwertige Kationen und der nachfolgende Ausstrom von Mg aus der Zelle ist unwahrscheinlich, denn nach ^{28}Mg -Efflux-Versuchen gelangt ^{28}Mg nur im Austausch gegen ^{24}Mg nach außen (10, 11). Ein Nettotransport

von Mg aus der Bakterienzelle scheint danach nicht möglich.

Für eine Mg-Bindung bei hoher extrazellulärer Mg-Konzentration sprechen auch Versuche mit Inhibitoren. Die Anwesenheit verschiedener Stoffwechselinhibitoren hatte keinen Einfluß auf den Mg-Gehalt, weder bei 30 mmol Mg noch bei 0,3 mmol Mg im Medium (Abb. 3). Der Energiestoffwechsel (Glykolyse, Atmung) war dabei mit 0,1 mmol/l *p*-Chlormercuribenzoat (pCMB) oder 0,1 mmol/l HgCl_2 vollständig gehemmt. Die Bindung des Mg scheint an der Zellmembran und nicht am Zellwall zu erfolgen, denn an Sphäroplasten, bei denen der Zellwall durch Behandlung mit Lysozym (teilweise) abgebaut war, ergab sich die gleiche Mg-Bindung wie bei unbehandelten Kontrollzellen (Abb. 1).

Mg-Ionenaktivität

Zur näheren Differenzierung des Mg-Gehalts der Zellen ermittelten wir parallel deren intrazelluläre Mg-Ionenaktivität mit einer Mg-sensitiven Elektrode.

Tabelle 1 zeigt, daß die Mg-Ionenaktivität beim Übergang zu einer hohen extrazellulären Mg-Konzentration (30 mmol/l), wenn die Zellen einen hohen Mg-Gehalt haben (vgl. Abb. 1), nur wenig zunimmt. Die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität hängt besonders bei hoher extrazellulärer Mg-Konzentration von den verwendeten Lösungen ab. Bei niedriger extrazellulärer Mg-Konzentration sind die Mg-Ionenaktivitäten hiervon unabhängig.

Wird nach Inkubation mit hoher extrazellulärer Mg-Konzentration mit Wasser gewaschen und werden die aufgeschlossenen Zellen in H_2O aufgenommen, so erhält man trotz hohen Gesamt-Mg-Gehaltes eine niedrige Mg-Ionenaktivität, d. h. der größte Teil des Mg ist gebunden. Wird nach Inkubation bei hoher Mg-Konzentration mit Wasser gewaschen und der Zellaufschluß in NaCl-KCl-Lösung aufgenommen, dann ist die Mg-Ionenaktivität wesentlich höher. Daraus kann man schließen, daß ein Teil des gebundenen Mg bei dieser höheren Ionenstärke von seinen Liganden abdissoziiert, wodurch eine höhere Mg-Ionenaktivität gemessen wird. Aus diesem Ergebnis läßt sich zusätzlich folgern, daß in der Zelle ein Gleichgewicht zwischen gebundenem und dissoziiertem Mg besteht und sich die

Tab. 1

Intrazelluläre Mg-Ionenaktivität von *E. coli*

Über Nacht gewachsene Zellen wurden gewaschen und in Tris-Medium mit 0,3 mmol/l bzw. 30 mmol/l MgCl_2 für 10 min bei 37°C mit und ohne 0,1 mmol/l HgCl_2 inkubiert, danach wie angegeben mit bidest. Wasser oder einer Lösung, die 60 mmol/l NaCl und 100 mmol/l KCl enthielt, einmal gewaschen. Das Sediment wurde in 4 ml H_2O aufgenommen, mit Ultraschall unter Kühlen aufgeschlossen, sofort in flüssiger Luft eingefroren, gefriergetrocknet und zur Messung der Mg-Ionenaktivität mit einer Mg-sensitiven Elektrode wie angegeben in bidest. Wasser oder der NaCl/KCl-Lösung aufgenommen (5). Angegeben sind die Mittelwerte \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes

(Mg) extrazellulär	0,3 mmol/l Mg		30 mmol/l Mg		
	H_2O Na/K	Na/K H_2O	H_2O H_2O	H_2O Na/K	Na/K H_2O
	Mg intrazellulär (mmol/l)				
Kontrolle	$1,6 \pm 0,2$ (n = 4)	$1,4 \pm 0,1$ (n = 7)	$1,4 \pm 0,2$ (n = 4)	$4,9 \pm 0,5$ (n = 6)	$1,5 \pm 0,2$ (n = 6)
HgCl_2 0,1 mmol/l	$1,7 \pm 0,2$ (n = 7)	$1,4 \pm 0,1$ (n = 8)	$1,4 \pm 0,2$ (n = 4)	$5,3 \pm 0,4$ (n = 5)	$1,6 \pm 0,2$ (n = 4)

Mg-Ionen in der Bakterienzelle im Puffergleichgewicht befinden, wie schon früher bei Ascitestumorzellen gefunden (12).

Die Mg-Ionenaktivitäten sind in Gegenwart von 0,1 mmol/l HgCl_2 , wenn Atmung und Glykolyse vollständig gehemmt sind, ebenso groß wie bei den Kontrollzellen. Dieser Befund läßt sich mit Ergebnissen von KENNEDY (10) und SILVER (11) mit ^{28}Mg erklären. Diese Untersucher fanden, daß der Influx und Efflux von ^{28}Mg durch Inhibitoren im gleichen Maße gehemmt wird und daß ^{28}Mg nur stöchiometrisch gegen ^{24}Mg austauschbar ist.

Eine Hemmung des Energiestoffwechsels sollte demnach sowohl die Mg-Aufnahme wie auch die Mg-Abgabe im gleichen Maße verhindern und den Gesamt-Mg-Gehalt und die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität — wie gemessen — unverändert lassen.

Energiestoffwechsel in Abhängigkeit von der Mg-Konzentration

Zur Kontrolle wurden Atmung und anaerobe Glykolyse in Abhängigkeit von der extrazellulären Mg-Konzentration gemessen (Abb. 4). Bei 30 mmol/l Mg sind Atmung und anaerobe Glykolyse um 15% gehemmt. Anhand dieses Versuches kann eine Abschätzung der intrazellulären Mg-Ionenaktivität von intakten Zellen vorgenommen werden. Wenn die Glykolyserate durch die Aktivität der Phosphofructokinase gesteuert wird, kann ihre Hemmung durch Mg einen Hinweis auf die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität geben. Bei Prüfung im optischen Test wurde die Phosphofructokinase um 15% gehemmt, als die Mg-Ionenaktivität im Ansatz etwa 3 mmol/l betrug (4). Dieser Wert würde mit dem Wert, der mit der Mg-sensitiven Elektrode (Tab. 1) gemessen wurde, übereinstimmen. Es ist aber möglich, daß die Glykolyserate durch die Permeation von Glucose durch die Zellmembran reguliert wird (13). Die Aufnahmegeschwindigkeit und die intrazelluläre steady-state Konzentration von ^{14}C - α -Methylglucosid in *E. coli* war bei 30 mmol/l Mg um 15% niedriger als bei 0,3 mmol/l Mg (Abb. 5). Die Mg-Bindung an die

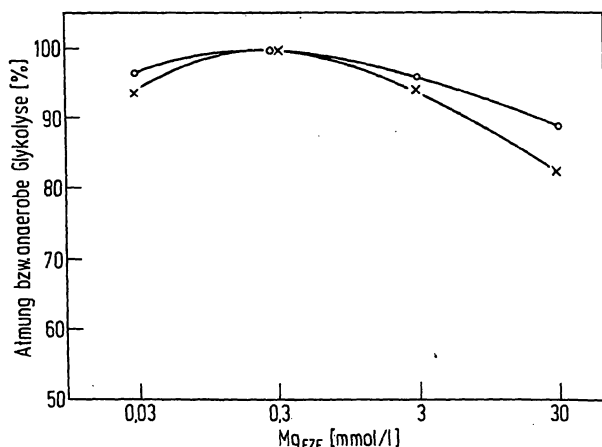


Abb. 4

Atmung (O) und anaerobe Glykolyse (x) von *E. coli* als Funktion der extrazellulären Mg-Konzentration. Der O₂-Verbrauch betrug bei 0,3 mmol/l MgCl_2 (100%) 5,0 $\mu\text{l O}_2/\text{mg Protein} \cdot \text{min}$, und der Glucoseverbrauch bei 0,3 mmol/l MgCl_2 (100%) war 45 $\mu\text{g Glucose}/\text{mg Protein} \cdot \text{min}$.

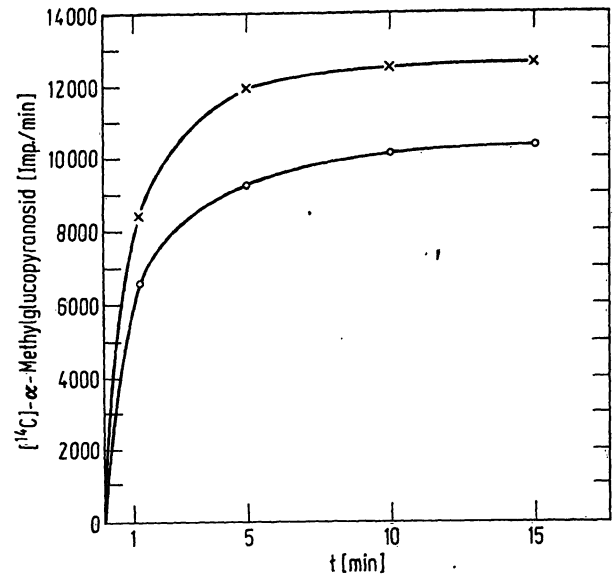


Abb. 5

Aufnahme von ^{14}C - α -Methylglucopyranosid in *E. coli* Zellen. Die Zellen wurden mit 30 mmol/l MgCl_2 (x) und 0,3 mmol/l MgCl_2 (O) inkubiert. Die Zählausbeute wurde nicht berücksichtigt; Einzelheiten s. Methodik.

Zellmembran könnte demnach auch infolge einer geringeren Glucosepermeation den Stoffwechsel erniedrigen, so daß anhand der Stoffwechselwirkung des Mg keine Abschätzung der intrazellulären Mg-Ionenaktivität möglich ist.

Mg-Stoffwechsel Mg-arm gewachsener Zellen

Zellen von *E. coli*, die über Nacht auf 10^{-6} mol/l Mg gewachsen waren, verhielten sich nach Reinkubation in ihrem Mg-Gehalt, ihrer intrazellulären Mg-Ionenaktivität und der Beeinflussbarkeit dieser beiden Größen durch Inhibitoren qualitativ wie Kontrollzellen (nicht dargestellt).

Damit übereinstimmend war auch der Transport von ^{28}Mg in Mg-arm gewachsene Zellen nach Reinkubation bei niedriger ^{28}Mg -Konzentration nur wenig stärker als bei Mg reich gewachsenen Zellen (14, 15).

Mg-Stoffwechsel an synchronisierten *E. coli*

Näheren Einblick in den Mg-Stoffwechsel ergaben Versuche mit ^{28}Mg . Die ^{28}Mg -Aufnahme und -Abgabe von *E. coli* waren durch Inhibitoren im gleichen Maße zu verringern (10, 11). Da bei diesen Versuchen in Mg-freiem Inkubationsmedium gewaschen wurde, ist nach unseren Ergebnissen diese ^{28}Mg -Aufnahme überwiegend auf eine Aufnahme in das Zellinnere zu beziehen.

Nach unseren Ergebnissen, wonach die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität auch bei hoher extrazellulärer Mg-Konzentration und bei Anwesenheit von Inhibitoren nahezu konstant bleibt (Tab. 1), ergibt sich, daß der ^{28}Mg -Influx und ^{28}Mg -Efflux auf einem Carrier-begünstigten Austauschtransport beruhen und keinen Nettotransport von Mg darstellen. Der für das Zellwachstum erforderliche Nettotransport von Mg sollte daher durch einen weiteren Mechanismus zustande kommen.

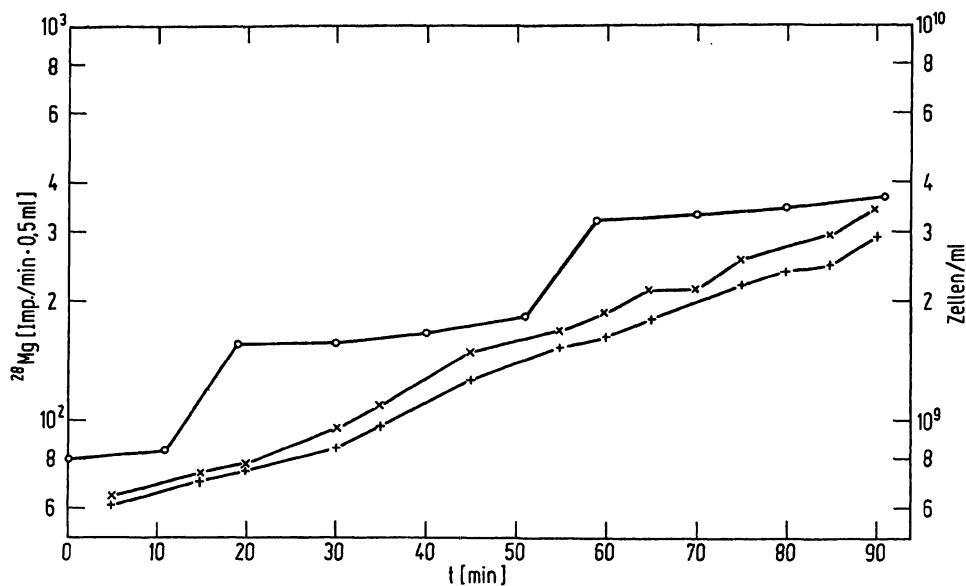


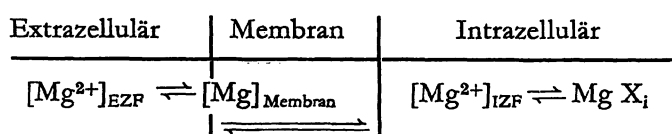
Abb. 6
Zellzahl (O) und Mg-Aktivität (x, +)
synchronisierter *E. coli*-Zellen
*²⁸Mg-Aktivität nach Waschen der Filter
mit H₂O (x)
**²⁸Mg-Aktivität nach Waschen mit eis-
kaltem, Mg-freiem Inkubationsmedium
(+); (Einzelheiten s. Methodik)

Wir untersuchten deshalb synchron wachsende *E. coli*-Zellen. Abbildung 6 zeigt, daß die ²⁸Mg-Aktivität und damit der Gesamt-Mg-Gehalt während des Wachstums kontinuierlich und nicht sprunghaft mit der Zellzahl ansteigen. Das intrazelluläre Mg nimmt also in gleicher Weise zu wie z. B. die Menge der intrazellulären Mg-Komplexbildner RNA und DNA (16). Mit Wasser gewaschene Zellen haben in Übereinstimmung mit Abbildung 1 etwa 15% höhere Mg-Aktivitäten als in Medium gewaschene Zellen.

Diskussion

Die Spezifität der Mg-sensitiven Elektrode, ihre Fehlermöglichkeiten und Aussagekraft wurden an anderer Stelle ausführlich beschrieben und diskutiert (5).

Aus den Versuchen läßt sich das folgende Schema des Mg-Stoffwechsels ableiten:



Das extrazelluläre Mg^{2+} steht im Gleichgewicht mit Membran-gebundenem Mg. Die Stabilitätskonstanten für diese Komplexe lassen sich nach Abbildung 1 auf $10^{1.5}$ l/mol schätzen. Diese Mg-Fraktion, die auf der Zellmembran lokalisiert werden kann, ist durch Waschen mit Mg-freien Lösungen höherer Ionenstärke größtenteils zu entfernen.

Mg wird nach den Ergebnissen von KENNEDY (10) und SILVER (11) durch einen einer Sättigungskinetik gehorchenden stoffwechselabhängigen Mechanismus durch die Zellmembran von *E. coli* transportiert.

Hierfür stehen offenbar verschiedene Transportsysteme zur Verfügung. Es läßt sich ein Transportsystem unterscheiden, das bei Wildtypzellen vorkommt, nicht reprimierbar ist und auch Cobalt transportiert.

Bei diesem Transportsystem sind Influx und Efflux von Mg im gleichen Maße durch Stoffwechselgifte, Abkühlen und durch Mutation zu beeinflussen (10, 11).

Dabei tritt nach unseren Messungen keine Änderung des zellulären Mg-Gehalts d. h. sowohl des Gesamtgehalts als auch der Mg-Ionenaktivität ein.

Es handelt sich daher offenbar um einen Carrier-begünstigten Austausch von Mg. Dieses System gehört wahrscheinlich zu dem von LUSK et al. (17) durch Mutation ausgeschalteten Mg-Transport. Diese Mutante benötigte für halbmaximales Wachstum eine 100fach höhere Mg-Konzentration als der Wildtyp.

Ein zweites Mg-Transportsystem ist nach Wachsen Cobalt-resistenter Mutanten, bei denen das Mg-Transportsystem eine geringere Affinität aufweist, in Medien mit hoher Mg-Konzentration reprimiert (14). Dieses System transportiert kein Cobalt (14). Seine Eigenschaften, z. B. Abhängigkeit vom Zellstoffwechsel, sind nicht näher bekannt.

Wenn beide Systeme vorhanden sind wie nach Wachsen normaler Zellen bei niedriger Mg-Konzentration, kommt es auch bei Inkubation in Medien mit hoher extrazellulärer Mg-Konzentration praktisch zu keiner Mg-Anreicherung in der Zelle. Es scheint also ein Sperrmechanismus zu existieren. Dieses Verhalten ließe sich ebenfalls mit einem Carrier-begünstigten Austausch von Mg durch die Zellmembran erklären. Ein derartiger Prozeß würde aber zu keinem Nettotransport von Mg führen. Für den (aktiven) Nettotransport von Mg, der für das Zellwachstum (bei niedriger Mg-Konzentration wie 10^{-6} mol/l) erforderlich ist, müßte demnach ein weiterer Transportmechanismus oder eine zusätzliche Regulation wie Entkopplung von Mg-Influx und Efflux gefordert werden. Die Versuche an synchronisierten *E. coli*-Zellen sprechen dafür, daß ²⁸Mg-Influx und ²⁸Mg-Efflux im Wachstum nicht fest gekoppelt sind, so daß eine mit der Zellmasse kontinuierliche Zunahme von Mg erfolgt.

Das in die Zelle transportierte Mg steht hier (soweit es schnell austauschbar ist (18)), im Gleichgewicht mit Komplex-gebundenem Mg, denn bei Messung der Mg-Ionenaktivität mit der Mg-sensitiven Elektrode war bei höherer Ionenstärke die Mg-Ionenaktivität erhöht.

Das intrazelluläre Mg^{2+} kann daher gemeinsam mit den zugehörigen intrazellulären Komplexbildnern als Mg-Puffer angesehen werden, dessen Mg-Ionenaktivität bei einem pMg von 3 ein optimales Funktionieren der Mg-abhängigen Enzyme erlaubt und dabei so niedrig ist, daß keine Fehlcodierung (19, 20) eintritt und die Mg-abhängigen Schritte der Proteinbiosynthese unter Beteiligung von Polyaminen verlaufen sowie durch

Initiations- (21) und Dissoziationsfaktoren (21, 22, 23) regulierbar sind. Die bei derartigen in vitro Versuchen erforderlichen Mg-Konzentrationen von 4 mmol/l sind unter Berücksichtigung des (unbekannten) Aktivitätskoeffizienten des intrazellulären Mg^{2+} , der auf 0,3–0,5 abgeschätzt werden kann, mit der hier gemessenen intrazellulären Mg-Ionenaktivität von 1,5–2 mmol/l identisch.

Literatur

1. GÜNTHER, T. (1965), Habil-Schrift, Med. Fak. FU Berlin. —
2. GÜNTHER, T. & MARISS, P. (1968), Z. Naturforsch. B 23, 334–338. —
3. GÜNTHER, T. & MARISS, P. (1968), Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349, 623–631. —
4. MARISS, P. (1969), Dissertation, Med. Fak. FU Berlin. —
5. GÜNTHER, T. & DORN, F. (1969), Z. Naturforsch. B 24, 713–717. —
6. GÜNTHER, T. & DORN, F. (1966), Z. Naturforsch. B 21, 1076–1081. —
7. KUBITSCHKE, H. E., FREEDMAN, M. L. & SILVER, S. (1971), Biophys. J. 11, 787–797. —
8. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. & RANDALL, R. J. (1951), J. Biol. Chem. 193, 265–275. —
9. BRAY, G. (1960), Analyt. Biochem. 1, 279. —
10. LUSK, J. E. & KENNEDY, E. P. (1969), J. Biol. Chem. 244, 1653–1655. —
11. SILVER, S. (1969), Proc. Nat. Acad. Sci. 62, 764–771. —
12. GÜNTHER, T. (1966), Z. Naturforsch. B 21, 1174–1177. —
13. KOTYK, A. & KLEINZELLER, A. (1967), Biochim. Biophys. Acta 135, 106–111. —
14. NELSON, D. L. & KENNEDY, E. P. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1091–1093. —
15. SILVER, S. & CLARK, D. (1971), J. Biol. Chem. 246, 569–576. —
16. SOKATCH, J. R. (1969), Bacterial Physiology and Metabolism, A. P. London, New York, p. 22. —
17. LUSK, J. E., WILLIAMS, R. J. P. & KENNEDY, E. P. (1968), J. Biol. Chem. 243, 2618–2624. —
18. ROGERS, A. (1964), Biochem. J. 90, 548–555. —
19. SZER, W. & OCHOA, S. (1964), J. Mol. Biol. 8, 823–834. —
20. DAVIES, J., GILBERT, W. & GORINI, L. (1964), Proc. Nat. Acad. Sci. 51, 883–890. —
21. LUCAS-LENARD, J. & LIPMANN, F. (1967), Proc. Nat. Acad. Sci. 57, 1050–1057. —
22. SUBRAMANIAN, A. P., RON, E. Z. & DAVIS, B. D. (1968), Proc. Nat. Acad. Sci. 61, 761–767. —
23. LUCAS-LENARD, J. & LIPMANN, F. (1971), Ann. Rev. Biochem. 40, 409–448.

Prof. Dr. T. Günther
1 Berlin 33
Arnimallee 22